

PEPTIDE AND PHYSIOLOGICAL ACTIVATOR CONTAINING THE SAME

Patent number: JP6041191
Publication date: 1994-02-15
Inventor: YAMAMOTO NAOYUKI; others: 02
Applicant: CALPIS FOOD IND CO LTD:THE
Classification:
- international: C07K5/10; A61K37/16; A61K37/18; C07K7/06;
C07K7/08; C07K7/10
- european:
Application number: JP19930043047 19930303
Priority number(s):

Abstract of JP6041191

PURPOSE: To provide a new peptide useful as a physiological activator, etc., having vasodepressor activity, calcium absorption promoting activity and antioxidation activity, comprising a specific amino acid sequence by hydrolyzing animal milk, etc., with lactic acid bacteria-producing proteinase.

CONSTITUTION: Lactic acid bacteria (e.g. Lactobacillus helveticus JCM-1,003, etc.) are cultured in skimmed milk at pH 6.0, centrifuged, collected, extracted with 50 mM tris-hydrochloric acid buffer solution (pH 8.0). The extracted solution is passed through an anion exchange column, the adsorbed material is eluted with a buffer solution containing 1.0 M NaCl to give lactic acid bacteria- producing proteinase. Then, the proteinase is blended with a solution of animal milk casein in a phosphoric acid buffer solution, reacted at 40 deg.C for 5 hours and the reaction solution is purified by ultrafiltration to give the peptide useful as a physiological activator, etc., showing at least one of vasodepressor activity, calcium absorption promoting activity and antioxidation activity.

Ala Tyr Pro Ser

Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-41191

(43) 公開日 平成6年(1994)2月15日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 5/10	Z N A	8018-4H		
A 6 1 K 37/16	A D D	8314-4C		
37/18	A B U	8314-4C		
C 0 7 K 7/06	Z	8318-4H		
7/08		7537-4H		

審査請求 未請求 請求項の数4(全10頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平5-43047	(71) 出願人	000104353 カルビス食品工業株式会社 東京都渋谷区恵比寿西2丁目20番3号
(22) 出願日	平成5年(1993)3月3日	(72) 発明者	山本 直之 神奈川県相模原市上鶴間6丁目27番6号
(31) 優先権主張番号	特願平4-47340	(72) 発明者	秋野 厚子 神奈川県横浜市港北区篠原町1200番
(32) 優先日	平4(1992)3月4日	(72) 発明者	高野 俊明 神奈川県川崎市麻生区細山1丁目7番3号
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 酒井 一 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ペプチド及びこれを含む生理活性剤

(57) 【要約】

【構成】 血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性等を有する新規なペプチド及び、該ペプチド若しくは獣乳を乳酸菌産生プロテイナーゼ又は特定の乳酸菌産生プロテイナーゼで分解して得られるペプチド又はペプチド混合物を有する生理活性剤。

【効果】 本発明の新規ペプチドは、血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性等を示す生理活性剤等に有用であり、また本発明の生理活性剤は、毒性がなく、優れた血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性を示す。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列表の配列番号1～19に記載されるアミノ酸配列で表わされるいずれかのペプチド及びその塩。

【請求項2】 血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示す生理活性剤であって、有効成分として配列表の配列番号1～23に記載されるアミノ酸配列で表わされるペプチド又はこれらの混合物及びそれらの医薬品及び食品上許容される塩を含有することを特徴とする生理活性剤。

【請求項3】 カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示す生理活性剤であって、有効成分として、獣乳カゼインを乳酸菌産生プロテナーゼで分解して得られるペプチド又はペプチド混合物を含有することを特徴とする生理活性剤。

【請求項4】 少なくとも血圧低下活性を示す生理活性剤であって、有効成分として、乳又は乳酸菌生育用培地を、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・カゼイ・サブスペシィーズカゼイ、ラクトバチルス・デルブリュキ・サブスペシィーズブルガリカス、ロイコノストック・ラクテス及びこれらの混合物からなる群より選択される乳酸菌を用いて発酵させて得られる乳酸菌産生プロテナーゼにより、獣乳カゼインを分解して得られるペプチド又はペプチド混合物を含有することを特徴とする生理活性剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、新規なペプチド及びこれを含み、且つ血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示す生理活性剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来、発酵乳が種々の生理活性作用を示すことが知られているが（特開昭61-53216号公報、特開昭61-53217号公報、特公平3-64486号公報等）、発酵乳中の如何なる成分が活性に関与しているかはあまり確認されていない。

【0003】 一方、カゼインのトリプシン、ペプシン等の酵素分解物が、例えば血圧低下活性、カルシウム可溶化活性等の生理活性を示すことも知られているが、発酵乳中に含まれるペプチド及びそのペプチドの機能に関してはほとんど知られていないのが現状である。

【0004】 乳酸菌は、乳中で生育し、菌体外プロテナーゼを産生し、カゼイン等の乳蛋白質を分解すると考えられており、最近、乳酸菌産生プロテナーゼによるカゼインの切断部位について一部報告がなされている[M onnetら(FEMS Microbiology Letters), 36, 127-131(1986), Zevacoら(Le Lait), 68, 393-408(1988)]。

【0005】 しかしながら、前記カゼインの切断部位に

2

能に関する報告はなされていない。

【0006】 また従来カゼインをトリプシン、ペプシン等により分解して得られるペプチドは、苦味の生成が大きな問題となっている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性等の生理活性等を示す新規なペプチド及びその塩を提供することにある。

10 【0008】 本発明の別の目的は、苦みがなく、且つ毒性がなく、優れた血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性を示す生理活性剤を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】 本発明によれば、配列表の配列番号1～19に記載されるアミノ酸配列で表わされるいずれかのペプチド及びその塩が提供される。

20 【0010】 また本発明によれば、血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示す生理活性剤であって、有効成分として配列表の配列番号1～23に記載されるアミノ酸配列で表わされるペプチド又はこれらの混合物及びそれらの医薬品又は食品上許容される塩を含有することを特徴とする生理活性剤が提供される。

30 【0011】 更に本発明によれば、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示す生理活性剤であって、有効成分として、カゼインを乳酸菌産生プロテナーゼで分解して得られるペプチド又はペプチド混合物を含有することを特徴とする生理活性剤が提供される。

40 【0012】 更にまた本発明によれば、少なくとも血圧低下活性を示す生理活性剤であって、有効成分として、乳又は乳酸菌生育用培地を、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・カゼイ・サブスペシィーズカゼイ、ラクトバチルス・デルブリュキ・サブスペシィーズブルガリカス、ロイコノストック・ラクテス及びこれらの混合物からなる群より選択される乳酸菌を用いて発酵させて得られる乳酸菌産生プロテナーゼにより、獣乳カゼインを分解して得られるペプチド又はペプチド混合物を含有することを特徴とする生理活性剤が提供される。

【0013】 以下本発明を更に詳細に説明する。

【0014】 本発明のペプチドは、配列表の配列番号1～19に記載されるアミノ酸配列で表わされるペプチドであり、またその塩としては、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、乳酸塩等の有機酸塩等を挙げることができる。

50 【0015】 本発明のペプチドを製造するには、例えばカゼインを乳酸菌産生プロテナーゼで分解、精製する

方法又は通常の化学合成法等により得ることができる。

【0016】前記乳酸菌産生プロティナーゼは、例えば牛乳、山羊乳、脱脂乳等の乳又は乳酸菌用培地、例えばBL培地、Briggs liver broth培地、MRS培地、GAM培地、TTY培地、MGLP培地等を、乳酸菌で発酵させ、好ましくは対数増殖期中期に集菌し、次いでカルシウムイオンを含むリン酸緩衝液又はトリス-塩酸緩衝液等により洗浄した後、カルシウムイオンを含まないリン酸緩衝液又はトリス-塩酸緩衝液等により抽出する方法又は更にDEAE-セファロースカラム、ゲル濾過カラム等により精製する方法等により得られるプロティナーゼ等を好ましく挙げることができる。

【0017】前記乳酸菌産生プロティナーゼを調製する際の乳酸菌としては、好ましくはラクトコッカス・ラクティスJCM-5805(*Lactococcus lactis* JCM-5805)等のラクトコッカス属、ラクトバチルス・ヘルペティカスJCM-1003(*Lactobacillus helveticus* JCM-1003)、ラクトバチルス・カゼイ・サブスペシィーズカゼイJCM-1134(*Lactobacillus casei* subsp. *casei* JCM-1134)、ラクトバチルス・デルブルキ・サブスペシィーズブルガリカスJCM-1002(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM-1002)等のラクトバチルス属、ロイコノストック・ラクテスJCM-6123(*Leuconostoc lactis* JCM-6123)等のロイコノストック属等を挙げることができる。また発酵は、好ましくは25~45℃にて、3~12時間の条件下行うことができる。また得られる発酵乳は、通常pH3~4を示すが、目的とするプロティナーゼの収率を増加させるために、前記発酵を中性域のpHに保ち行うのが好ましい。更に前記抽出は、好ましくは5~40℃にて10~60分間抽出する工程を2~5回繰り返すことにより行うことができる。

【0018】該乳酸菌産生プロティナーゼでカゼインを分解するには、該乳酸菌産生プロティナーゼと、例えばリン酸緩衝液等の緩衝液に溶解したカゼインとを混合し、30~45℃にて、1~12時間反応させ、次いで、遠心分離し、好ましくは分子量分画10000~50000の限外濾過膜等で限外濾過し、更に逆相液体カラムクロマトグラフィを用いて精製する方法等により、目的とする配列表の配列番号1~19に記載されるアミノ酸配列で表わされるペプチドを精製させることができ、更に配列表の配列番号20~23に記載されるアミノ酸配列で表わされるペプチドを精製することもできる。この際乳酸菌産生プロティナーゼとカゼインとの混合割合は、重量比で1:10~1000であるのが好ましい。

【0019】本発明の生理活性剤は、前記ペプチド(1)~(23)又はこれらの混合物及びそれらの医薬上許容される塩(以下有効成分1と称す)、若しくは獣乳カゼインを乳酸菌産生プロティナーゼで分解して得られるペプチド又はペプチド混合物(以下有効成分2と称す)を有効

成分とし、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性の少なくとも1つの活性を示すもの、あるいは乳又は乳酸菌生育用培地を、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・ヘルペティカス、ラクトバチルス・カゼイ・サブスペシィーズカゼイ、ラクトバチルス・デルブルキ・サブスペシィーズブルガリカス、ロイコノストック・ラクテス及びこれらの混合物からなる群より選択される乳酸菌を用いて発酵させて得られる乳酸菌産生プロティナーゼにより、獣乳カゼインを分解して得られるペプチド又はペプチド混合物(以下有効成分3と称す)を有効成分とし、少なくとも血圧低下活性を示すものである。

【0020】前記有効成分1は、前述のカゼインを乳酸菌産生プロティナーゼで分解、精製する方法又は通常の化学合成法等により得ることができる。また前記有効成分2は、前述の獣乳カゼインを乳酸菌産生プロティナーゼで分解、精製する方法により得られるペプチドの他に、該方法の精製工程を行わず、遠心分離工程迄によって得られるペプチド混合物成分を有効成分とすることができ、前記有効成分3は、前述の獣乳カゼインを前記特定の乳酸菌産生プロティナーゼで分解、精製する方法により得られるペプチドの他に、該方法の精製工程を行わず、遠心分離工程迄によって得られるペプチド混合物成分を有効成分とすることができる。

【0021】本発明の生理活性剤において、前記有効成分1、2又は3の含有割合は、0.1~100重量%、特に0.5~10重量%とするのが好ましい。

【0022】本発明の生理活性剤の投与形態は、主に経口投与等で行うことができる。剤形は、錠剤、顆粒剤、カプセル剤等として、更には液体剤として用いることもできる。また有効成分1、2又は3を、通常の医薬品あるいは医療食品、更には一般食品に添加、配合して用いることもできる。

【0023】本発明の生理活性剤の投与量は、患者の年齢、症状等により異なるが、前記有効成分1、2又は3をペプチド混合物として用いる場合には、有効成分1、2又は3を基準として1~100mg/体重kg・日の範囲で投与するのが好ましい。更に具体的には、前記有効成分1又は3の個々のペプチドを用いて、血圧低下活性を主目的とする場合には、有効成分1又は3を基準として1mg/体重kg・日以上で使用するのが好ましく、前記有効成分1又は2の個々のペプチドを用いて、カルシウム吸収促進活性又は抗酸化活性を主目的とする場合には、有効成分1又は2を基準として5mg/体重kg・日以上で使用するのが好ましい。

【0024】本発明の生理活性剤には、前記有効成分以外に、乳糖、デキストリン等の賦形剤、安定剤等を配合することができ、更にカルシウム吸収促進剤として用いる場合には、乳酸カルシウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム等のカルシウム塩等を併用するのが好ましい。

【0025】

5

【発明の効果】本発明の新規ペプチドは、血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性等を示す生理活性剤等に有用であり、また本発明の生理活性剤は、毒性がなく、優れた血圧低下活性、カルシウム吸収促進活性及び抗酸化活性を示す。

【0026】

【実施例】以下本発明を実施例に基づいて具体的にしますが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0027】

【実施例1】ラクトバチルスヘルベチカスJCM-1003 10
を、9重量%の脱脂乳中でpHを6.0に保ち培養し、濁度(590nmの吸収度)1.0において、クエン酸ナトリウムを1重量%添加し室温にて20分間保持した。次に5000回転、20分間の遠心分離を行い集菌し、20mM塩化カルシウム、50mMβ-グリセロリン酸ナトリウム緩衝液(pH8.0)で洗浄した後、50mMトリス-塩酸(pH8.0)を50ml加えて37℃で、30分間保温、抽出した。次いで10000回転、10分間の遠心を行い上清液を採取した。同じ操作を合計4回行い上清液約200mlを採集した(粗抽出液)。この粗抽出液を、予め5mMエチレンジアミンテトラ酢酸溶液(EDTA)、20mMトリス-塩酸緩衝液(pH7.8、TE緩衝液)で平衡化したDEAE-セファロースカラム(5ml)に通した。カラムを0.3Mの塩化ナトリウムを含むTE緩衝液30mlで洗浄後、1.0M塩化ナトリウムを含むTE緩衝液15mlで溶出し、この活性画分(溶出画分)から約150μgの乳酸菌産生プロティナーゼをほぼ単一なものとして得た。

【0028】次に、20mMのリン酸緩衝液(pH7. 30
5)に溶解したカゼイン1gを上記得られたプロティナーゼあるいは比較としてトリプシン(和光純薬株式会社製)50μgと混合し、40℃で5時間反応させた。それぞれの反応液を10000回転、10分間の遠心後、限外ろ過(商品名「アドバンテック東洋UHP-150」、限外ろ過膜:分子量分画10000、富士フィルター工業株式会社製)を行ったところ、カゼイン1gからプロティナーゼ分解ペプチド約700mg(収率約70%)とトリプシン分解ペプチド約800mg(収率約80%)のペプチドがろ過外液中に得られた。

【0029】次いで得られたカゼイン分解ペプチド混合物を用いて、自然発症高血圧ラット(SHRラット、日本チャールズリバー社)に対する血圧降下作用を調べた。15週令雄ラット(1群5匹)に上記カゼイン分解ペプチド各々を胃ゾンデで強制投与(各140mg/kg)し、未投与群と血圧の経時変化を比較した。血圧測定は、非観血式血圧測定装置(商品名「PE-300」、ナルコバイオシステム社製)を用い、tail-cuff法で最高血圧を求めた。結果を図1に示す。

【0030】図1の結果より本発明ペプチドが、経口投 50

6

与により約4~7時間後において有意に血圧低下作用を示す事が確認された。トリプシン分解ペプチドには、このような強い効果は認められなかった。

【0031】

【実施例2】実施例1にて得られたプロティナーゼで分解したカゼイン分解物を、さらに高速液体クロマトグラフ(HPLC)により精製した。該精製は、逆相系樹脂を充填したカラム(M&S PACK C-18、0.46φ×150mm)にカゼイン分解物を通し、0.1重量%TFA水溶液で洗浄後、0.1重量%TFA水溶液~0.06重量%TFA/(アセトニトリル:イソプロパノール=3:7)溶液により60%迄の直線濃度勾配で溶出した。流速は、1ml/分、濃度勾配は1%/分とした。215nmの主な吸収ピークを各々集めた。さらにこれらのペプチドからそれぞれ溶媒を除去し、同条件により、再クロマトによりさらに精製した。それぞれのペプチドについて、減圧下でアセトニトリルを除去し、凍結乾燥により本発明のペプチドを得た。これらのペプチドについて、6N塩酸で120℃、24時間加水分解し、アミノ酸分析(高速アミノ酸分析装置、商品名「MLC-203型」、アトー株式会社製)を行った。アミノ酸分析よりα-カゼイン及びβ-カゼイン内の位置を特定した。これらのペプチドは、α-カゼイン各々についてHPLCの溶出順にそれぞれ表1に示すα-1~8、β-1~15のペプチドであることが確認された。これらのペプチド及び実施例1で調製したプロティナーゼで分解したカゼイン分解物(ペプチド混合物)の血圧降下活性(ACEI活性)、カルシウム可溶性活性(CS活性)及び抗酸化活性(SOD様活性)を、以下に示す方法に従って測定した。比較のためにα-カゼイン及びβ-カゼインのトリプシン分解物についても、同様にそれぞれの活性を調べた。結果を表2に示す。

【0032】<アンジオテンシン変換酵素阻害(ACEI)活性>

【ACEI活性の測定方法】ペプチドを含む試料20μlと、5mM Hiproil-His-Leu(HHL、シグマ社)、0.3M NaCl、0.1M ホウ酸緩衝液(pH8.3)260μlを試験管内で37℃で10分間保温する。その後0.05U/mlのアンジオテンシン変換酵素(ACE:シグマ社)を20μl加え、37℃で30分間反応させた。その後、1N塩酸250μlを加え、反応を停止させた。酢酸エチル1.7mlを加え20秒間攪拌した後、3000回転で10分間遠心を行い酢酸エチル層1.4mlを採取した。その酢酸エチルを120℃で30分間加熱し乾燥後、蒸留水1mlを加え20秒間攪拌し、抽出されたHHLの吸収(228nmの吸光度)を測定した。

【0033】阻害率は、次式により算出した。

【0034】

【数1】

$$\text{阻害率} = \frac{A - B}{A - C} \times 100 (\%)$$

【0035】 A: 試料を含まない場合の228nmの吸光度

B: 試料を添加した場合の228nmの吸光度

C: 酵素および試料を添加しない場合の228nmの吸光度

ACEIの酵素活性を50%阻害するために必要な試料の濃度(μg/ml)をIC₅₀として示す。

【0036】 <カルシウム可溶化(CS)活性>

〔CS活性の測定方法〕カルシウムの定量は、キレート法(オルトクレゾールフタレインコンプレキソン、OCPC法)により行った。

【0037】ペプチドを含む試料50μlと、20mM塩化カルシウム、10mMトリス-塩酸緩衝液(pH7.0)10μlを混合し、室温にて5分間保温する。さらに20mMリン酸緩衝液(pH7.0)を40μl加えて37℃でさらに30分間保温する。その後、15000回転で5分間遠心を行い上清液10μlを採取し、商品名「カルシウムC-テストワコー」(和光純薬)に含まれる緩衝液800μlと同封のOCPC試薬80μlを加えて発色させ、570nmの吸光度を測定した。

【0038】

【数2】

$$\text{可溶化率} = \frac{B}{A - C} \times 100 (\%)$$

【0039】 A: リン酸緩衝液を加えない場合の570nmの吸光度

B: 試料を添加した場合の570nmの吸光度

C: 試料を添加しない場合の570nmの吸光度

カルシウムの可溶化率を50%とするために必要な試料の濃度(μg/ml)をSC₅₀として表2に示す。

【0040】 <スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)様活性>

〔SOD様活性の測定〕ジエチレントリアミンペンタ酢酸(DETAPAC)溶液(5mg DETAPAC、9.8mlの50mMリン酸カリウム緩衝液、0.37mlの4μg/mlカタラーゼ、0.37mlの1.83mg/mlニトロブルーテトラゾリウム(NBT)、1.26mlの1.0mMキサンチン)400μlと、ペプチドを含む試料20μlと、キサンチンオキシダーゼ(シグマ社製を400倍希釈)50μlとを混合し、30℃で保温した。この際3分間で変化する吸光度(560nmの吸光度)の差を測定した。キサンチンオキシダーゼの阻害率は次式により算出した。

【0041】

【数3】

$$\text{阻害率} = \frac{A - B}{A - C} \times 100 (\%)$$

【0042】 A: 試料を加えないときの560nmの吸光度

B: 試料を加えたときの560nmの吸光度

C: 酵素添加しない場合の560nmの吸光度

キサンチンオキシダーゼの酵素活性を50%阻害するために必要な試料の濃度(μg/ml)をIC₅₀として表2示す。

【0043】

【表1】

ペプチド

ペプチドのアミノ酸配列の番号

 α -カゼイン由来ペプチド

- α -1. Ala Tyr Pro Ser 4
- α -2. Ala Tyr Phe Tyr Pro Glu 6
- α -3. Val Ala Pro Phe Pro Gln Val Phe 8
- α -4. Gly Ala Trp Tyr Tyr Val Pro Leu 8
- α -5. Gln Leu Asp Ala Tyr Pro Ser Gly Ala Trp Tyr Tyr Val Pro 14
- α -6. Gly Thr Gln Tyr Thr Asp Ala Pro Ser Phe Ser Asp Ile Pro Asn 15
Pro Ile Gly Ser Glu Asn Ser Glu Lys Thr Thr Met Pro Leu Trp 30
- α -7. Gly Ser Glu Asn Ser Glu Lys 7
- α -8. Gly Ser Glu Asn 4

 β -カゼイン由来ペプチド

- β -1. Lys Ala Val Pro Tyr Pro Gln 7
- β -2. Ala Val Pro Tyr Pro Gln 6
- β -3. Gln Ser Leu Thr Leu 5
- β -4. Lys Tyr Pro Val Gln Pro Phe Thr Glu Ser Gln Ser Leu Thr Leu 15
- β -5. Ser Lys Val Leu Pro Val Pro Glu 8
- β -6. Pro Pro Gln Ser Val Leu Ser Leu Ser Gln Ser Lys Val Leu Pro 15
Val Pro Glu 18
- β -7. Arg Asp Met Pro Ile Gln Ala Phe 8
- β -8. His Lys Glu Met Pro Phe Pro Lys Tyr Pro Val Gln Pro Phe 14
- β -9. Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro 8
- β -10. Tyr Gln Gln Pro Val Leu Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro Ile 15
Ile Val 17
- β -11. Leu Pro Gln Asn Ile Pro Pro Leu Thr Gln Thr Pro Val Val Val 15
Pro Pro Phe Leu Gln Pro Glu Val Met Gly Val Ser Lys 28
- β -12. Leu Leu Tyr Gln Gln Pro Val Leu Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe 15
Pro Ile Ile Val 19
- β -13. Leu Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ile Thr Arg Ile Asn Lys Lys Ile 15
Glu Lys Phe Gln Ser Glu Glu Gln Gln Thr Glu Asp Glu Leu 30
Gln Asp Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu Val Tyr 45
Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn Ser 54
- β -14. Leu Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ile Thr Arg Ile Asn Lys Lys Ile 15
Glu Lys Phe Gln Ser Glu Glu Gln Gln Thr Glu Asp Glu Leu 30
Gln Asp Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu Val Tyr 45
Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn Ser Leu Pro Gln Asn Ile Pro 60
Pro Leu Thr Gln Thr Pro Val Val Val Pro Pro Phe Leu Gln Pro 75
Glu Val Met Gly Val Ser Lys 82
- β -15. Asp Glu Leu Gln Asp Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser 15
Leu Val Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn Ser 27

【0044】

【表2】

ペプチド番号	ACE I 活性 IC50(μg/ml)	SC 活性 SC50(μg/ml)	SOD 様活性 IC50(μg/ml)
α-カゼイン由来ペプチド			
混合物	11	55	450
α-1	—	44	550
-2	76	61	91
-3	—	120	73
-4	—	223	450
-5	—	159	138
-6	—	574	468
-7	—	47	45
-8	—	25	21
β-カゼイン由来ペプチド			
混合物	24	115	219
β-1	—	87	—
-2	—	149	—
-3	—	67	—
-4	167	102	—
-5	38	31	—
-6	55	29	—
-7	201	108	—
-8	—	308	—
-9	—	30	—
-10	206	155	312
-11	483	258	—
-12	49	26	22
-13	—	155	141
-14	—	169	107
-15	14	14	21
α-カゼイン トリプシン分解物	—	188	250
β-カゼイン トリプシン分解物	—	413	740

【0045】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：4

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Tyr Pro Ser

1

【0046】配列番号：2

配列の長さ：6

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Tyr Phe Tyr Pro Glu

1

5

【0047】配列番号：3

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Val Ala Pro Phe Pro Gln Val Phe

1

5

【0048】配列番号：4

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

40

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Ala Trp Tyr Tyr Val Pro Leu

1

5

【0049】配列番号：5

配列の長さ：14

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

50

13

14

配列

Gln Leu Asp Ala Tyr Pro Ser Gly Ala Trp Tyr Tyr Val Pro

1

5

10

【0050】配列番号: 6

*トポロジー: 直鎖状

配列の長さ: 30

配列の種類: ペプチド

配列の型: アミノ酸

*

配列

Gly Thr Gln Tyr Thr Asp Ala Pro Ser Phe Ser Asp Ile Pro Asn Pro

1

5

10

15

Ile Gly Ser Glu Asn Ser Glu Lys Thr Thr Met Pro Leu Trp

20

25

30

【0051】配列番号: 7

※Lys Ala Val Pro Tyr Pro Gln

配列の長さ: 7

1

5

配列の型: アミノ酸

【0054】配列番号: 10

トポロジー: 直鎖状

配列の長さ: 6

配列の種類: ペプチド

配列の型: アミノ酸

配列

トポロジー: 直鎖状

Gly Ser Glu Asn Ser Glu L

配列の種類: ペプチド

ys

配列

1

5

20

Ala Val Pro Tyr Pro Gln

【0052】配列番号: 8

1

5

配列の長さ: 4

【0055】配列番号: 11

配列の型: アミノ酸

配列の長さ: 5

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列

配列の種類: ペプチド

Gly Ser Glu Asn

配列

1

1

5

【0053】配列番号: 9

30

【0056】配列番号: 12

配列の長さ: 7

30

配列の長さ: 15

配列の型: アミノ酸

配列の型: アミノ酸

トポロジー: 直鎖状

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: ペプチド

配列の種類: ペプチド

配列

※

配列

Lys Tyr Pro Val Gln Pro Phe Thr Glu Ser Gln Ser Leu Thr Leu

1

5

10

15

★Ser Lys Val Leu Pro Val Pro Glu

【0057】配列番号: 13

1

5

配列の長さ: 8

40

【0058】配列番号: 14

配列の型: アミノ酸

配列の長さ: 18

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列

★

配列の種類: ペプチド

配列

Pro Pro Gln Ser Val Leu Ser Leu Ser Gln Ser Lys Val Leu Pro Val

1

5

10

15

Pro Glu

【0059】配列番号: 15

配列の型: アミノ酸

配列の長さ: 8

50

トポロジー: 直鎖状

15

16

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro

1

5

【0060】配列番号：16

配列

Leu Pro Gln Asn Ile Pro Pro Leu Thr Gln Thr Pro Val Val Val Pro

1

5

10

15

Pro Phe Leu Gln Pro Glu Val Met Gly Val Ser Lys

20

25

【0061】配列番号：17

配列の長さ：54

配列の型：アミノ酸

配列

Leu Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ile Thr Arg Ile Asn Lys Lys Ile Glu

1

5

10

15

Lys Phe Gln Ser Glu Glu Gln Gln Gln Thr Glu Asp Glu Leu Gln Asp

20

25

30

Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu Val Tyr Pro Phe Pro

35

40

45

Gly Pro Ile Pro Asn Ser

50

【0062】配列番号：18

配列の長さ：82

配列の型：アミノ酸

配列

Leu Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ile Thr Arg Ile Asn Lys Lys Ile Glu

1

5

10

15

Lys Phe Gln Ser Glu Glu Gln Gln Gln Thr Glu Asp Glu Leu Gln Asp

20

25

30

Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu Val Tyr Pro Phe Pro

35

40

45

Gly Pro Ile Pro Asn Ser Leu Pro Gln Asn Ile Pro Pro Leu Thr Gln

50

55

60

Thr Pro Val Val Val Pro Pro Phe Leu Gln Pro Glu Val Met Gly Val

65

70

75

80

Ser Lys

【0063】配列番号：19

配列の長さ：27

配列の型：アミノ酸

配列

Asp Glu Leu Gln Asp Lys Ile His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu

1

5

10

15

Val Tyr Pro Phe Pro Gly Pro Ile Pro Asn Ser

20

25

【0064】配列番号：20

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Arg Asp Met Pro Ile Gln A

la Phe

1

5

50 【0065】配列番号：21

配列の長さ: 14

配列の型: アミノ酸

配列

His Lys Glu Met Pro Phe Pro Lys Tyr Pro Val Gln Pro Phe

1

5

10

【0066】配列番号: 22

配列の長さ: 17

配列の型: アミノ酸

配列

Tyr Gln Gln Pro Val Leu Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro Ile Ile

1

5

10

15

Val

【0067】配列番号: 23

配列の長さ: 19

配列の型: アミノ酸

配列

Leu Leu Tyr Gln Gln Pro Val Leu Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro

1

5

10

15

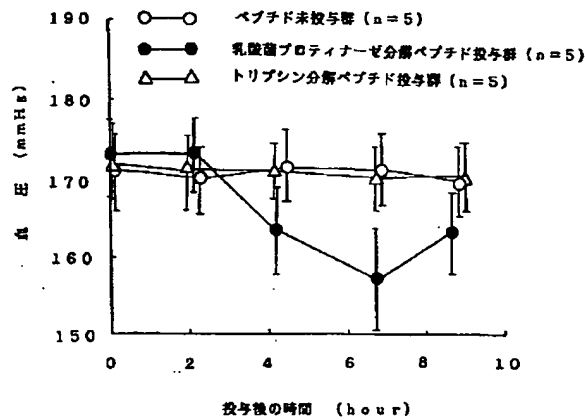
Ile Ile Val

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、実施例1でtail-cuff法によ

り測定した最高血圧と投与後の時間との関係を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁵

C 07 K 7/10

// A 23 J 3/10

3/34

A 23 L 1/305

C 12 P 21/06

C 07 K 99:00

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

7537-4H

7236-4B

7236-4B

8214-4B